

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11) Publication number : 53-092729
 (43) Date of publication of application : 15.08.1978

(51) Int.CI. C07C103/52
 C07C103/52
 C12D 13/06
 C12D 13/06

(21) Application number : 52-007279	(71) Applicant : TOYO SODA MFG CO LTD SAGAMI CHEM RES CENTER
(22) Date of filing : 27.01.1977	(72) Inventor : ISOWA YOSHIKAZU OMORI MUNEKI MORI KAORU ICHIKAWA TETSUYA NONAKA YUJI KIHARA KEIICHI KOYAMA KIYOTAKA SATO HEIJIRO NISHIMURA JITETSU

(54) ADDUCT OF DIPEPTIDE DERIVATIVES AND AMINO ACID DERIVATIVES AND PROCESS FOR THEIR PREPARATION

(57) Abstract:

PURPOSE: Adducts of dipeptide esters and aminocarboxylic acid esters I(R1 is aliphatic oxycarbonyl, nuclear substd-benzyloxycarbonyl, etc.; R2 is methyl, isopropyl, etc.; R3 is lower alkoxy, benzyloxy, etc.; n is 1 or 2), e.g. adduct of Nbenzyloxycarbonyl-L-aspartyl-L-phenylalaninemethylester with L-phenylalaninemethylester.

LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

⑨日本国特許庁
公開特許公報

⑩特許出願公開
昭53-92729

⑪Int. Cl. ²	識別記号	⑫日本分類	広内整理番号
C 07 C 103/52	1 0 1	16 C 64	7330-43
	1 0 3	16 B 651	6956-43
C 12 D 13/06	1 0 5	36(2) D 35	7110-49
	1 0 7	36(2) D 251	7110-49

⑬公開 昭和53年(1978)8月15日
発明の数 5
審査請求 未請求
(全22頁)

⑭ジペプチド誘導体とアミノ酸誘導体との付加化合物及びその製造法

⑮発明者 市川哲也
相模原市栄町3丁目16番地

⑯特許 昭52-7279

野中悠次

⑰出願 昭52(1977)1月27日

新南陽市大字富田4560番地

⑱発明者 磯和義員

木原啓一

東京都世田谷区船橋2丁目20番
6号

新南陽市大字富田4560番地

同 大森宗樹

小山清孝

東京都豊島区雑司谷2丁目5番
9号

新南陽市大字富田4560番地

同 森馨

佐藤平次郎

相模原市西大沼4丁目4番1号

新南陽市大字富田4560番地

⑲出願人 東洋曹達工業株式会社

新南陽市大字富田4560番地

最終頁に続く

明細書の添付(内容に変更なし)
明細書

ある)で表わされる化合物。

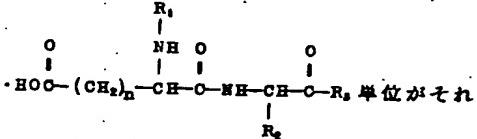
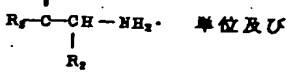
1.発明の名称

⑳R₁がベンジルオキシカルボニル基であり、
R₂がベンジル基であり、R₃がメトキシ基であ
り、nが1である特許請求の範囲第1項記載
の化合物。

ジペプチド誘導体とアミノ酸誘導体との付加
化合物及びその製造法。

2.特許請求の範囲

㉑式中



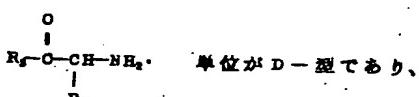
ぞれL-L型及びL-L型である特許請求の範
囲第1項又は第2項記載の化合物。

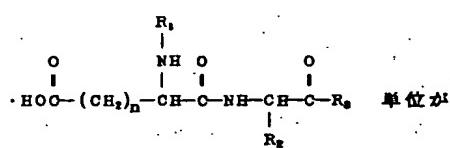
㉒式中

$$\begin{array}{c} R_1 \\ | \\ O \\ R_2-C(=O)-CH_2-NH_2-O-(CH_2)_n-C(=O)-NH-C(=O)-R_3 \end{array}$$

 で表わされる化合物(式中R₁は脂肪族オキシ
カルボニル基、核置換基を有することあるベ
ンジルオキシカルボニル基、ベンゾイル基、
芳香族スルフォニル基、又は芳香族スルフィ
ニル基であり、R₂はメチル基、イソブチル基、
イソアミル基又はベンジル基であり、R₃は低
級アルコキシ基、ベンジルオキシ基又はベン
ズヒドリルオキシ基であり、nは1又は2で

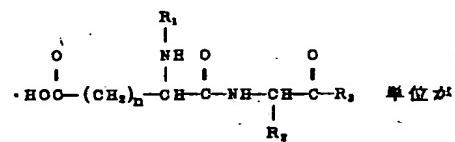
㉓式中





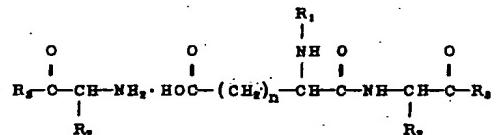
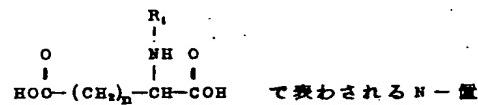
L L-型である特許請求の範囲第1項又は第2項記載の化合物

(e) 式中



L L-型である特許請求の範囲第1項又は第2項記載の化合物。

(f) 一般式



で表わされるジペプチドエステルとアミノカルボン酸エステルとの付加化合物（式中 R₁, R₂, R₃ 及び n は前記同様の意味である）の製造法。

(g) R₁ がベンジルオキシカルボニル基であり、R₂ がベンジル基であり、R₃ がメトキシ基であり、n が 1 である特許請求の範囲第6項記載の製造法。

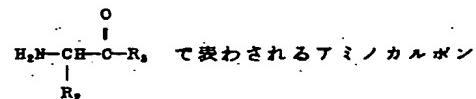
(h) 水性媒体が水溶液である特許請求の範囲第6項又は第7項記載の製造法。

(i) 蛋白分解酵素が金属プロテアーゼである特許請求の範囲第6項乃至第8項のいずれかの項記載の製造法。

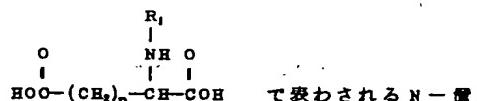
(j) 反応を pH 5 乃至 8 で行う特許請求の範囲第6項乃至第9項記載の製造法。

特開昭53-92729(2)

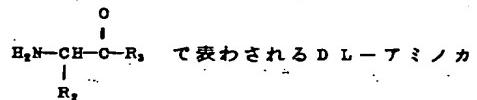
換モノアミノジカルボン酸（式中 R₁ は脂肪族オキシカルボニル基、核置換基を有することあるベンジルオキシカルボニル基、ベンゾイル基、芳香族スルフォニル基又は芳香族スルフィニル基であり、n は 1 又は 2 である）と、一般式



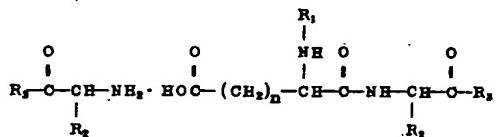
(k) 一般式



換-L-モノアミノジカルボン酸（式中 R₁ は脂肪族オキシカルボニル基、核置換基を有することあるベンジルオキシカルボニル基、ベンゾイル基、芳香族スルフォニル基又は芳香族スルフィニル基であり、n は 1 又は 2 である）と、一般式



ルボン酸エステルとの付加化合物を形成させて反応系より分離することを特徴とする、一般式



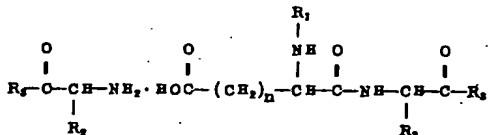
で表わされる L-L 型ジペプチドエステルと D 一型又は D 一型に富むアミノカルボン酸エステルとの付加化合物（式中 R₁, R₂, R₃ 及び n は前記同様の意味である）の製造法。

44. R₁ がベンジルオキシカルボニル基であり、R₂ がベンジル基であり、R₃ がメトキシ基であり、n が 1 である特許請求の範囲第 1 1 項記載の製造法。

45. 水性媒体が水溶液である特許請求の範囲第 1 1 項又は第 1 2 項記載の製造法。

46. 蛋白分解酵素が金属プロテアーゼである特許請求の範囲第 1 1 項乃至第 1 3 項のいずれかの項記載の製造法。

シ基である）とを水性媒体中蛋白分解酵素の存在下で反応させ、生成した L-L 一型ジペプチドエ斯特ルと L-L 一型アミノカルボン酸エ斯特ルとの付加化合物を形成させて反応系より分離し、水性媒体中より N- 置換-D- モノアミノジカルボン酸を回収することを特徴とする、一般式



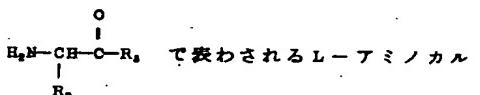
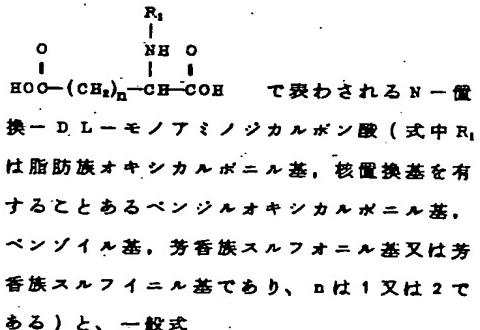
で表わされる L-L 一型ジペプチドエ斯特ルと L-L 一型アミノカルボン酸エ斯特ルとの付加化合物（式中 R₁, R₂, R₃ 及び n は前記同様の意味である）の製造法。

47. R₁ がベンジルオキシカルボニル基であり、R₂ がベンジル基であり、R₃ がメトキシ基であり、n が 1 である特許請求の範囲第 1 6 項記載の製造法。

特開昭53-92729 (3)

48. 反応を pH 5 乃至 8 で行なう特許請求の範囲第 1 1 項乃至第 1 4 項のいずれかの項記載の製造法。

49. 一般式



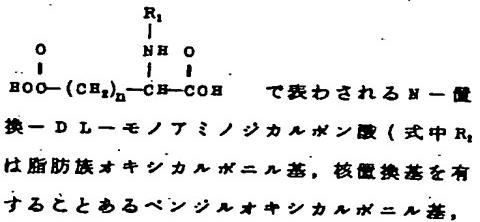
シ基である）とをモル比でほぼ同量用いる特許請求の範囲第 1 6 項又は第 1 7 項記載の方法。

50. 水性媒体が水溶液である特許請求の範囲第 1 6 項乃至第 1 8 項のいずれかの項記載の製造法。

51. 蛋白分解酵素が金属プロテアーゼである特許請求の範囲第 1 6 項乃至第 1 9 項のいずれかの項記載の製造法。

52. 反応を pH 5 乃至 8 で行なう特許請求の範囲第 1 6 項乃至第 2 0 項のいずれかの項記載の製造法。

53. 一般式



ベンゾイル基、芳香族スルフォニル基又は芳香族スルフィニル基であり、ロは1又は2である）と、一般式



許請求の範囲第22項乃至第25項記載の製造法。

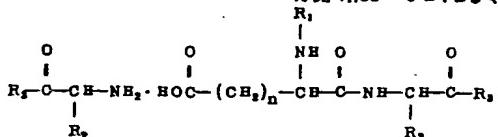
（イ）反応をpH5乃至8で行なう特許請求の範囲第22項乃至第26項のいずれかの項記載の製造法。

3. 発明の詳細な説明

本発明はジペプチド誘導体とアミノ酸誘導体との新規な付加化合物及びその製造法に関するものであり、更に詳しくは N-置換モノアミノジカルボン酸エ斯特ルとアミノカルボン酸エ斯特ルとのジペプチドにアミノカルボン酸の付加した新規な化合物、及びその製造法に関するものである。

ババインやキモトリプシンの様な蛋白分解酵素が蛋白分解（ペプチド結合の切断）の逆反応であるペプチド結合の生成反応に関与し得ることは古くから知られている。例えば Bergmanらはババインを用いてアニリドの合成を行なつてある。また Pruton はアミノ基をベンゾイル基等で保護したロイシン等のモノアミノカルボン酸とカルボキシ

特開昭53-92729(4)



で表わされる L-L-型ジペプチドエ斯特ルと D-型又は D-型に富むアミノカルボン酸エ斯特ルとの付加化合物（式中 R₁, R₂, R₃ 及び ロは前記同様の意味である）の製造法。

（ロ） R₁ がベンジルオキシカルボニル基であり、R₂ がベンジル基であり、R₃ がメトキシ基でありロが1である特許請求の範囲第22項記載の製造法。

（ハ） N-置換-D,L-モノアミノジカルボン酸と D,L-アミノカルボン酸エ斯特ルとをモル比でほぼ同量用いる特許請求の範囲第22項又は第23項記載の方法。

（ニ） 水性媒体が水溶液である特許請求の範囲第22項乃至第24項のいずれかの項記載の製造法。

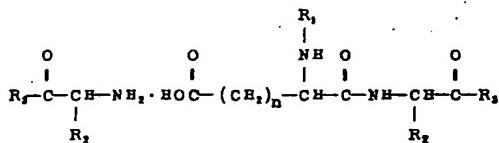
（ホ） 蛋白分解酵素が金属プロテアーゼである特

ル基をアミド又はアニリドとして保護したロイシンやグリシンを、ババインやキモトリプシンを用いてペプチド結合させ得ることを明らかにしている（“Advances in Protein Chemistry”, 第5巻, 33頁(1949), Academic Press Inc., New York, N.Y.）。最近では本発明者のうち磯和らがアミノ基をベンジルオキシカルボニル基で保護したアミノ酸とカルボキシル基をエ斯特ル化したアミノ酸とをババイン、プロリシン、スプチリシン BPN' 等の酵素を用いてペプチド合成反応を行なつたことが報告されている（日本化学会第35秋期大会予稿集, 482頁及び486頁(1976), 日本化学会）。これらの方では生成物を採取するため、反応生成物が水溶性基を失つて水不溶となり析出すること（これはペプチド生成反応を進行させるためにも必要である）ことを利用する。従つて生成物になお水溶性を保存する様な基が残る場合、例えば出発物質としてアスパラギン酸の様にロ位に更にカルボキシル基がある場合には、この観点からもその様な基を保護基によつて保護

するのが好ましいと考えられていた。

本発明者らはこの様な系について深く考究した結果、アスパラギン酸やグルタミン酸の様なモノアミノジカルボン酸のアミノ基を保護した(末端保護)ものを出発物質として用いるとジペプチド自体は析出しないが、相手側の出発物質、即ちカルボキシル基をエステル化したアミノ酸(アミノカルボン酸エステル)として特定のものを選ぶと生成するジペプチドとアミノカルボン酸エステルとの付加化合物が析出することを見つけて本発明を完成した。

即ち本発明は、一般式



で表わされる化合物(式中 R_1 は脂肪族オキシカルボニル基、核置換基を有することあるベンジルオキシカルボニル基、ベンゾイル基、芳香族スルfonyl 基、又は芳香族スルフィニル基であり、 R_2

$(2,6-(CH_3O)_2-\phi-CH_2-O-CO-)$ 等のその核置換誘導体基、ベンゾイル基($\phi-CO-$)、p-トルエンスルホニル基($p-CH_3-\phi-SO_2-$)等の芳香族スルホニル基; 又は $O-NO_2-\phi-SO_2-$ 等の芳香族スルフィニル基である。

R_2 について云えば、これがメチル基のときはアラニンの、イソプロピル基のときはバリンの、イソブチル基のときはロイシンの、イソアミル基のときはイソロイシンの、ベンジル基のときはフェニルアラニンの骨格をそれぞれ持つものである。

また R_2 はアルコール残基であつて、メトキシ基(CH_3O-)、エトキシ基(C_2H_5O-)、プロポキシ基(C_3H_7O-)、ブトキシ基(C_4H_9O-)などの低級アルコキシ基; ベンジルオキシ基; 又はベンズヒドリルオキシ基である。

本発明の化合物、例えばその典型的な例である N -ベンジルオキシカルボニルアスパラチル・フェニルアラニンメチルエステルとフェニルアラニンメチルエステルとから生ずる化合物について云えば、第1図(実施例1で得られた本発明の化

はメチル基、イソプロピル基、イソブチル基、イソアミル基又はベンジル基であり、 R_2 は低級アルコキシ基、ベンジルオキシ基又はベンズヒドリルオキシ基であり、 n は 1 又は 2 である)で表わされる新規かつ有用な化合物を提供するものである。

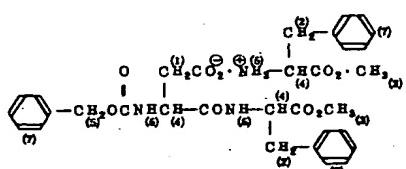
本発明はまた上記一般式で表わされる化合物(以下本発明の化合物という)の製造法を提供するものである。

本発明の化合物は n が 1 のときアスパラギン酸の、 n が 2 のときグルタミン酸の骨格を含むものである。

本発明の化合物の式中、 R_1 は第3級ブチルオキシカルボニル基($(CH_3)_3C-O-CO-$)、第3級アミルオキシカルボニル基($(CH_3)_2C(C_2H_5)-O-CO-$)の様な脂肪族オキシカルボニル基; ベンジルオキシカルボニル基($\phi-CH_2-O-CO-$)若くは p -メトキシベンジルオキシカルボニル基($p-CH_3O-\phi-CH_2-O-CO-$)、3,5-ジメトキシベンジルオキシカルボニル基($3,5-(CH_3O)_2-\phi-CH_2-O-CO-$)、2,4,6-トリメトキシベンジルオキシカルボニル基

合物の赤外吸収スペクトル図)に示す様に、赤外吸収スペクトルにおいて、 $3,260\text{ cm}^{-1}$ [CN-H 伸縮]、 $3,000\sim 3,200\text{ cm}^{-1}$ [C-H 伸縮]、 $1,740\text{ cm}^{-1}$ [C=O]、 $1,720\text{ cm}^{-1}$ [ケラタンの C=O]、 $1,660\text{ cm}^{-1}$ [アミド第I吸収]、 $1,630\text{ cm}^{-1}$ [カルボキシレート]、 $1,540\text{ cm}^{-1}$ [アミド第II吸収]、 $1,430$ 及び $1,450\text{ cm}^{-1}$ [C=O]変角]、 $1,390\text{ cm}^{-1}$ [カルボキシレート]、 $1,220\sim 1,290\text{ cm}^{-1}$ [C=O-C 伸縮及びアミド第II吸収]、 $1,050\text{ cm}^{-1}$ [フェニル面内変角]、 740 及び 695 cm^{-1} [モノ置換ベンゼン環面外変角]、それぞれ由来する吸収がみられる。

また同じ化合物の核磁気共鳴スペクトルを第2図に示すがその特徴は δ : 2.75 ppm , 3.02 ppm , 3.61 ppm , 3.7 ppm , $4.4\sim 4.8\text{ ppm}$, 5.05 ppm , 5.82 ppm , 及び 7.3 ppm [C]あり、これらはそれぞれ下記の様に帰属させることができると云ふ。

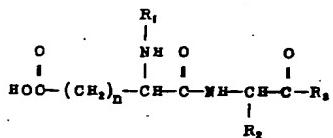


(1)	$\delta = 2.75$	ppm (2H)
(2)	$\delta = 3.02$	ppm (4H)
(3)	$\delta = 3.61$	ppm (5H)
及び (4)	$\delta = 3.7$	ppm (3H)
(5)	$\delta = 4.4 \sim 4.8$	ppm (5H)
(6)	$\delta = 5.05$	ppm (2H)
(7)	$\delta = 5.82$	ppm (5H)
(8)	$\delta = 7.5$	ppm (15H)

本発明の化合物の元素分析値は上記一般式の場合の計算値と極めてよい一致を示す。また塩酸等の強酸で処理した後、酢酸エチル等の有機溶剤で抽出すると有機層から酸性を示す物質が得られる。R₁がベンジルオキシカルボニル基、R₂がベンジル基、R₃がメトキシ基の場合について云うと、その赤外吸収スペクトルは第3図に示す様に

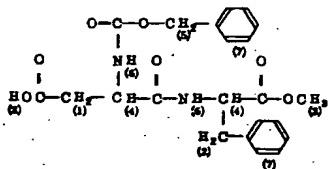
の値、即ち：(1) 2.75 ppm (2H), (2) 3.02 ppm (2H), (3) 3.61 (3H), (4) 4.4～4.8 (2H), (5) 5.01 (2H), (6) 6.3 (2H), (7) 7.2 (10H) 及び (8) 8.1 (1H) もとの構造を支持する（数値の前の括弧内の数字は上記式中の括弧の中の数字に対応）。

一般的に云えどこの酸性物質は L-L-型の一般式



で表わされる化合物である。本発明の化合物を塩酸等の強酸により処理し、有機溶剤で抽出すると上述した様に上記の一般式で表わされる化合物が得られるが、そのとき水相からは使用原料により L-型、D型又は D型に富むアミノカルボン酸が回収される。その場合上記化合物とアミノカルボン酸が当量関係となることから、本発明の化合物が前記した一般式で表わされるジペプチドエス

特開昭53-92729 (6)
 $3,350\text{ cm}^{-1}$ (N-H 伸縮), $2,950 \sim 3,100\text{ cm}^{-1}$ (C=O エステル及びカルボン酸), $1,700\text{ cm}^{-1}$ (ウレタン), $1,660\text{ cm}^{-1}$ (アミド第1吸収), $1,540\text{ cm}^{-1}$ (アミド第2吸収), $1,430$ 及び $1,450\text{ cm}^{-1}$ (C-H 变角), $1,220$, $1,240$ 及び $1,290\text{ cm}^{-1}$ (C-O-C (エテル及びアミド第3吸収), $1,020$ 及び $1,040\text{ cm}^{-1}$ (フェニル面内変角並びに 690 及び 730 cm^{-1} (モノ置換ベンゼン環面外変角) の吸収に特徴があり、このものを接触還元すると公知の L-L-アスパラチルーフェニルアラニンメチルエステルと同一の物質が得られること及び元素分析値が一致する等の事実から、この酸性物質は



の構造を持つ化合物と決定した。核磁気共鳴吸収

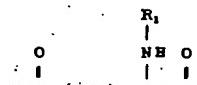
ルとアミノカルボン酸エステルとの 1 : 1 の付加化合物であることが明らかとなつた。

本発明の化合物はペプチド合成における中間体として極めて有用な物質である。前述した様に本発明の化合物を塩酸等の強酸で処理し有機溶剤で抽出すれば保護されたアミノ基を持つジペプチドが得られる。このものからそのアミノ基の保護基である R₁を慣用の方法、例えば水素還元等によつて除去すれば容易にアミノ基とカルボキシル基を各 1 個有するジペプチドエステルとすることができる。こうして得られるジペプチドエステルは極めて有用な物質である。例えば R₁ が 1、R₂ がベンジル基で R₃ がメトキシ基の場合であるアスパルチル・フェニルアラニンメチルエステルは甘味剤として用いることのできる物質である。

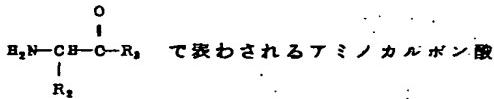
一方本発明の方法は本発明の化合物を製造する方法に関するものであつて、N-置換モノアミノジカルボン酸及びアミノカルボン酸エステルを蛋白分解酵素によつてペプチド結合させ、更に生成するジペプチドエステルとアミノカルボン酸エス

ルとの付加化合物を形成させ、これを回収するものである。

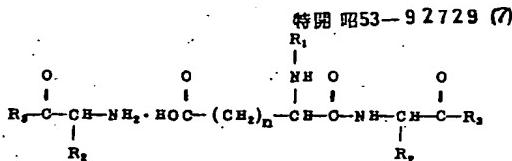
即ち、一般式



で表わされるN-置換モノアミノジカルボン酸（式中R₁及びnは本発明の化合物のそれと同一の意味を表す）と、一般式



エステル（式中R₂及びR₃は本発明の化合物のそれと同一の意味を表す）とを水性媒体中蛋白分解酵素の存在下で反応させ、更に生成したジペプチドエステルとアミノカルボン酸との付加化合物を形成させ、これを分離することを特徴とする。一般式



で表わされるジペプチドエステルとアミノカルボン酸エステルとの付加化合物（式中R₁、R₂、R₃及びnは前記同様の意味である）の製造法である。

出発物質のN-置換モノアミノジカルボン酸はnが1のときアスパラギン酸の、nが2のときグルタミン酸のN-置換誘導体である。

R₁はアミノ基の保護基であつて、本発明の方法においてアミノ基を保護するものである。従つて本発明の方法の反応の間安定であることが必要であるが、後にアミノ基から離脱させる必要がある場合には、生成物の骨格に影響を与えることなしに離脱できるものであることも必要である。また本発明の化合物は水性媒体から析出させて分離するので、その析出を妨害する様な基、例えはスルホン基の様な水溶性を大きく増大させる基を持つものであつてはならない。本発明の方法で用いる

N-置換モノアミノジカルボン酸は相当するモノアミノジカルボン酸に慣用の方法でアミノ基の保護基R₁を導入することにより容易に得ることができる。

一方の出発物質であるアミノカルボン酸エステルとしては側鎖に疎水性の基を持つアミノ酸のエステルを用いるものであり、R₁がメチル基のときはアラニンの、イソプロピル基のときはバリンの、イソブチル基のときはロイシンの、イソアミル基のときはイソロイシンの、ベンジル基のときはフェニルアラニンのエステルである。

本発明の方法で用いる蛋白分解酵素としては活性中心に金属イオンを有する酵素即ち金属プロテアーゼが最も好ましい。その例としては微生物起源のもの、例えは、放線菌起源の中性プロテアーゼ、プロリシン、サーモライシン、コラゲナーゼ、クロタルスアストロクスプロテアーゼ等をあげることができる。粗製の酵素例えはサモアーゼなども使用できる。その際夾雜するエステラーゼ等の作用を避けるため、ボテトイントヒビターなど

の阻害剤を併用してもよい。

ババインなどのチオールプロテアーゼ、又はトリプシンなどのセリンプロテアーゼも使用不能ではないがエステラーゼ作用を伴うので、エステルの加水分解が起きない様注意して反応を行なう必要がある。

本発明のペプチド生成反応は水性媒体中、好ましくは水溶液中、使用する蛋白分解酵素が酵素活性を示すpH条件のもとで反応させるものである。本発明のペプチドとアミノカルボン酸エステルとの付加化合物形成反応もpH依存性があり、結局本発明の方法はpH約4乃至約9、最も好ましくはpH約5.5乃至約8で行なうのが望ましい。従つて出発原料であるN-置換モノアミノジカルボン酸及びアミノカルボン酸エステルは遊離型でも塩でもよいが、この両成分を水性媒体中に溶解したとき、このpH条件に調整する必要がある。pH調節剤としては塩酸、硫酸、酢酸の様な慣用の無機酸又は有機酸及び水酸化ナトリウム、水酸化カリウムの様な水酸化アルカリ、炭酸ナトリウム、炭酸水素カ

リウムの様なアルカリ炭酸塩、アンモニア、トリメチルアミン、トリエチルアミン、エタノールアミンの様な有機又は無機のアミン等の慣用の無機又は有機の塩基を用いることができる。

本発明の方法では放出される水素イオシの量と水酸イオンの量は当量関係にあるので、反応によるpH変動はあまりない。しかし勿論その変動を抑えるため、適当な緩衝剤を使用してもよい。工業的にはpH検出機構と連動するpH調節機構を設けて制御するのが便利である。

水性媒体としては通常水溶液を使用する。その際水に可溶の有機溶剤を併用してもよい。

本発明の方法は温度10°C乃至90°C、酵素活性を維持する観点から好ましくは20°C乃至50°Cで行なうものである。反応は通常約30分乃至24時間程度で完結するが、この反応時間はなんら限定的でない。

本発明の方法の両出発物質の使用濃度には格別の限定はないが、本発明の方法が本質的に生成物を析出させることに依存するものであるので、こ

の濃度は比較的高い方が望ましい。しかし生成物の付加化合物は水に対する溶解度が小さいので(N-ペニシルオキシカルボニル-L-アスパルチル-L-エニルアラニンメチルエステルとL-エニルアラニンメチルエステルとの付加化合物の場合、20°Cでの溶解度0.3g/100g水程度)、可成小さい濃度でも実施が可能である。具体的には約0.001M乃至7M程度好ましくは0.1M乃至4Mである。

この両成分の使用比率も限定的でない。しかし、本発明の方法が結局はD-置換モノアミノジカルボン酸1分子とアミノカルボン酸エステル2分子とを結合させることにあるので、この両原料は化学量論上1:2のモル比で、実際上は100:1乃至1:100、好ましくは5:1乃至1:5、最も好ましくは2:1乃至1:3のモル比で用いるものである。

本発明の両原料は必ずしもその全量が、水性媒体中に溶解していることを要せず、一部懸濁状態のものがあつてもよい。反応の進行によつて両原

料の濃度が減少し、その落込みが起るからである。ただしの場合、pHの変動が起る恐れが大きいので反応の進行に応じてpH調節の必要があることが多い。

本発明の方法で使用する酵素の量もまた限定的でない。使用濃度が高ければ反応が短時間で完了するが、濃度が低いとそれだけ反応時間が長くなるだけである。しかし一般的には両出発物質(基質)1ミリモルに対して2乃至400m(5×10⁻³乃至1×10⁻²ミリモル)程度、好ましくは5乃至100m(1×10⁻⁴乃至5×10⁻⁴ミリモル)程度である。

本発明の方法のペプチド生成反応はL体についてのみ起り、D体はこの反応に関与しない。一方付加化合物形成のためのアミノカルボン酸エステルはL型であるとD型であるとを問わない。従つて原料のアミノカルボン酸エステルとしてDL型を使用するとペプチド結合生成によつて溶液中のL型アミノカルボン酸エステルが消費され、ジペプチドエステルとの付加化合物形成

には、よりD型に富むアミノカルボン酸エステルが関与することとなる。本発明の方法の反応は基質濃度が高いとほとんど定量的に進行するので、L型のD-置換モノアミノジカルボン酸1モル量に対して2モル量のDL-L型アミノカルボン酸エステルを使用したときは、ほとんどL型のジペプチドエステルとD型のアミノカルボン酸エステルとの付加物からなる本発明の化合物が得られる。この付加化合物はすでに述べた様に容易に両成分に分離できるので、ジペプチドエステルの製造と、アミノカルボン酸エステルの光学分割を同時に行なうことができる。分離したD型又はL型に富むアミノカルボン酸エステルは慣用の手段でラセミ化させ、本発明の原料として循環使用することができる。

またDL-L型のD-置換モノアミノジカルボン酸とL型のアミノカルボン酸エステルを用いればD型のD-置換モノアミノジカルボン酸は反応しないので水性媒体中に残り、L-L型ジペプチドエステルとL型のアミノカルボン酸エステ

ルとの付加化合物が得られる。従つて水性媒体中よりD-型のN-置換モノアミノジカルボン酸を回収すれば、ジペプチドエステルの製造とN-置換-DL-モノアミノジカルボン酸の光学分割を同時に行なうことができる。こうして回収したN-置換-DL-モノアミノジカルボン酸も慣用の手段でラセミ化すれば本発明の方法の出発原料として再使用することができる。

更にまたDL-型のN-置換モノアミノジカルボン酸とDL-型のアミノカルボン酸エステルを使用すれば、同様にして水性媒体中からN-置換-モノアミノジカルボン酸を、析出するL-型ジペプチドエステルとD-アミノカルボン酸エステルとの付加化合物からペプチドエステルとD-アミノカルボン酸を得ることができるので、ジペプチドエステルの製造と、N-置換-DL-モノアミノジカルボン酸の光学分割及びDL-アミノカルボン酸エステルの光学分割を同時に行なうことができる。

本発明の方法によればジペプチドエステルの製

実施例 1

N-ベンジルオキシカルボニルL-アスパラギン酸 1.335 g (5ミリモル) 及び L-フェニルアラニンメチルエステル塩酸塩 1.078 g (5ミリモル) を内容積約 3.0 ml のフテスコにとり、水 2.0 ml を加えて溶解し、アンモニア水 (7重量%) で pH 6.0 に調整した。この溶液にサーモライシン 5.0 mg を加えて 3.0 乃至 4.0 ℃ で 1 夜間振とうした。析出した沈殿を汎集し、水 4.0 ml で水洗後乾燥し、融点 117 乃至 120 ℃ を示す微細な針状品 1.145 g を得た (L-フェニルアラニンメチルエステル塩酸塩を基準とする、N-ベンジルオキシカルボニルアスパラギル-L-フェニルアラニンメチルエステルと L-フェニルアラニンメチルエステルの 1 : 1 付加化合物としての取率 75.5 %)。

このものを酢酸エチル-ヨーヘキサンの混合溶媒から再結晶して得た物質の物性及び元素分析結果は：

融点：120～124 ℃

$(\alpha)_D^{25} +7.1$ (c = 1, メタノール)

特開昭53-92729 (9)
造に当たり、公知技術では当然必要と考えられる側鎖カルボキシル基への保護基の導入及び除去の工程を省略できる。従つてその工程に併う原料、製品等の損失を避けることができる。また適当な条件を選べば收率が極めて高い。

本発明の方法では使用原料としてDL-型が使用できる。しかも通常の酵素を用いる方法ではD-型は反応に関与しないとしても、無用のものであり、原料の損失につながるが、本発明の方法ではジペプチドの析出剤として有効に利用でき、しかも回収可能である。

本発明の方法では更にまたN-置換-DL-アミノジカルボン酸及びDL-アミノカルボン酸エステルの光学分割を同時に行なうことができる。

以下本発明を実施例について更に詳細に説明する。

元素分析	C ₂₂ H ₂₂ N ₂ O ₅ として の計算値 (%)	実測値 (%)
C :	63.24	63.15
H :	6.13	6.15
N :	6.97	7.00

また赤外吸収スペクトル図を第1図に、核磁気共吸収スペクトル図を第2図に示す。

こうして得た物質1.145mgを塩酸(1N)4.0mlに溶解し、酢酸エチル3.0mlで3回抽出し抽出液を混合、水2.0mlで3回洗浄した。得られた酢酸エチル溶液に無水硫酸マグネシウムを加えて乾燥した。この溶液を濃縮し、ローハキサンを加えて再結晶して結晶性物質6.40mgを得た。このものの物性及び元素分析結果は：

融点：115～125°C

(α)_D²⁵：-15.3 (C=1, メタノール)

元素分析	C ₁₂ H ₂₂ N ₂ O ₂ として の計算値(%)		実測値(%)
	C	H	
	61.67	6.152	
	5.65	5.65	
	6.54	6.57	

またこの物質の赤外吸収スペクトル図を第3図に、核磁気共鳴スペクトル図を第4図に示す。これらの結果はL-アスパラチル-L-フェニルアラニンメチルエステルのアミノ基をベンジルオキシカルボニル化して得られる物質と一致した。

チル-L-フェニルアラニンメチルエステルとL-フェニルアラニンメチルエ斯特との1:1付加化合物1.504mgを得た(L-フェニルアラニンメチルエ斯特塩酸塩基準で収率9.91%) (融点104乃至113°C)。

実施例3

N-ベンジルオキシカルボニル-L-アスパラギン酸及びL-フェニルアラニンメチルエ斯特の使用量をそれぞれ53.4mg(2ミリモル)及び86.3mg(4ミリモル)に変えた他は実施例2に準じて反応を行ない、N-ベンジルオキシカルボニル-L-アスパラチル-L-フェニルアラニンメチルエ斯特とL-フェニルアラニンメチルエ斯特との1:1付加化合物1.068mgを得た(融点116乃至119°C, N-ベンジルオキシカルボニル-L-アスパラギン酸基準で収率7.04%)。

実施例4

N-ベンジルオキシカルボニル-L-アスパラギン

特開昭53-92729(10)
また上述した酢酸エチル溶液での抽出の際の塩酸層と洗浄水の混合液からはL-フェニルアラニンメチルエ斯特を回収した。

従つて上記最初の反応で得られた物質はN-ベンジルオキシカルボニル-L-アスパラチル-L-フェニルアラニンメチルエ斯特とL-フェニルアラニンメチルエ斯特との付加化合物であり、両者の比は核磁気共鳴スペクトルから1:1であることがわかつた。

実施例2

N-ベンジルオキシカルボニル-L-アスパラギン酸1.335mg(5ミリモル)及びL-フェニルアラニンメチルエ斯特塩酸塩1.078mg(5ミリモル)を内容積約3.0mlのフラスコにとり、水1.0mlを加えて溶解し、アンモニア水(7重量%)でpH6に調整した。この溶液にサーモライシン5.0mgを加えて、3.8乃至4.0°Cで1夜間振とうした。析出した沈殿を汎集し、充分に水を切つてから乾燥し、N-ベンジルオキシカルボニル-L-アスパラ

酸53.4mg(2ミリモル)及びL-フェニルアラニンメチルエ斯特塩酸塩86.3mg(4ミリモル)を内容積約3.0mlのフラスコにとり水8mlを加えて溶解し、アンモニア水(7重量%)でpH6.2に調節した。この溶液にサーモライシン5.0mgを加えて3.8乃至4.0°Cで1夜間振とうした。析出した沈殿を汎集し、充分に水を切つてから乾燥し、N-ベンジルオキシカルボニル-L-アスパラチル-L-フェニルアラニンメチルエ斯特とL-フェニルアラニンメチルエ斯特との1:1付加化合物1.099mgを得た。(N-ベンジルオキシカルボニル-L-アスパラギン酸基準で収率9.05%)

実施例5

N-ベンジルオキシカルボニル-L-アスパラギン酸2.67.2mg(1ミリモル)及びL-フェニルアラニンメチルエ斯特53.7.6mg(3ミリモル)にpH7.0のマツキルペイン緩衝液5mlを加えて溶解し、これにサモアーゼ1.00mg及びポテトインヒビター1.00mgを添加して3.8°Cで20時間振とう

うした。析出した結晶を汎集し、水洗後乾燥して N-ベンジルオキシカルボニル-L-アスパラチル-L-フエニルアラニンメチルエステルと L-フエニルアラニンメチルエステルとの 1:1 付加化合物を粗結晶として 5.80 mg (融点 123°C 乃至 125°C, N-ベンジルオキシカルボニル-L-アスパラギン酸基準で収率 9.55%) 得た。これをジメチルホルムアミドと水との混合溶媒 (1:1) 4.0 ml に溶解し、H型強酸性陽イオン交換樹脂を加えて充分に攪拌し、樹脂を除去した後汎液を減圧濃縮した。残渣をジメチルホルムアミドに溶解したのち水を加えて N-ベンジルオキシカルボニル-L-アスパラチル-L-フエニルアラニンメチルエステルの結晶を析出させた。得量 3.30 mg (N-ベンジルオキシカルボニル-L-アスパラギン酸基準で収率 7.70%)、融点 123°C 乃至 125°C。

実施例 6

N-ベンジルオキシカルボニル-L-アスパラギン酸 2.67.2 mg (1ミリモル) 及び L-フエニルアラニンメチルエステル塩酸塩 1.07.8 mg (5ミリモル) を内容積 3.0 ml のフラスコにとり、水 4 ml を

加えて溶解し、トリエチルアミンで pH 6.8 に調整した。この溶液にサモライシン 2.0 mg を加えて 3.8 乃至 4.0°C で 2 日間振とうした。析出した沈殿を汎集し、水 4.0 ml で洗浄後、乾燥し、N-ベンジルオキシカルボニル-L-アスパラチル-L-フエニルアラニンメチルエステルと L-フエニルアラニンメチルエステルとの 1:1 付加化合物 4.75 mg を得た (L-フエニルアラニンメチルエステル塩酸塩基準で収率 31.3%)。このものを酢酸エチル-二-ヘキサン混合溶媒から再結晶して得た結晶の物性及び元素分析値は下記の通りであつた：

融点：120~124°C

(α)_D²⁵ : +7.2 (C = 1, メタノール)

元素分析	計算値 (%)	実測値 (%)
C :	63.24	63.52
H :	6.13	6.22
N :	6.97	7.04

実施例 8

pH を 5.2 とした他は実施例 7 と全く同様にして反応を行ない N-ベンジルオキシカルボニル-L-

ニンメチルエステル 3.58.4 mg (2ミリモル) 及び pH 7.0 のマツキルペイン緩衝液 5 ml を加えて溶解し、これにタシナーゼ N (Tacynease N) 1.00 mg 及びポテトインヒビター 1.00 mg を添加して 3.8°C で 6 時間振とうした。析出した結晶を汎集し、水洗後乾燥して N-ベンジルオキシカルボニル-L-アスパラチル-L-フエニルアラニンメチルエステルと L-フエニルアラニンメチルエステルとの 1:1 付加化合物を粗結晶として 1.20 mg (融点 119°C 乃至 123°C, 収率 19.7%) 得た。これを実施例 5 に準じて強酸性陽イオン交換樹脂で処理し、N-ベンジルオキシカルボニル-L-アスパラチル-L-フエニルアラニンメチルエステルの結晶 5.0 mg (融点 95°C 乃至 105°C, 収率 11.7%) を得た。

実施例 7

N-ベンジルオキシカルボニル-L-アスパラギン酸 1.33.3 mg (5ミリモル) 及び L-フエニルアラニンメチルエステル塩酸塩 1.07.8 mg (5ミリモル) を内容積 3.0 ml のフラスコにとり、水 4 ml を

-アスパラチル-L-フエニルアラニンメチルエステルと L-フエニルアラニンメチルとの 1:1 付加化合物 7.53 mg を得た (L-フエニルアラニンメチルエステル塩酸塩基準で収率 49.5%)。

実施例 9

N-ベンジルオキシカルボニル-L-アスパラギン酸 1.33.6 mg (0.5ミリモル) 及び L-フエニルアラニンメチルエステル 8.9.6 mg (0.5ミリモル) 及び pH 7.0 のマツキルペイン緩衝液 2.5 ml 及びトリエチルアミン 0.07 ml を加えて溶解し (pH 6.7 となつた)、これにサモアーゼ 5.0 mg 及びポテトインヒビター 5.0 mg を添加して 3.8°C で 20 時間振とうした。析出した結晶を汎集し、水洗後乾燥して N-ベンジルオキシカルボニル-L-アスパラチル-L-フエニルアラニンメチルエステルと L-フエニルアラニンメチルエステルとの 1:1 付加化合物を粗結晶として 1.30 mg (融点 115°C 乃至 124°C, L-フエニルアラニンメチルエステル基準で収率 8.55%) 得た。

特開昭53-92729(12)
70mg (L-フェニルアラニン利用率50%基準で
収率66%)を得た。

これをジメチルホルムアミドと水との混合溶媒(1:1)20mlに溶解し、実施例5に準じて日型強酸性陽イオン交換樹脂による処理を行ない、N-ベンジルオキシカルボニル-L-フェニルアラニンメチルエステルの結晶7.5mg (L-フェニルアラニンメチルエステル利用率50%基準で収率70%)を得た。

実施例10

トリエチルアミン0.07mlに代えてN-メチルモルホリン0.05mlを用いて実施例9に準じて反応を行ない(反応開始時pH6.4)、N-ベンジルオキシカルボニル-L-アスパラチル-L-フェニルアラニンメチルエステルとL-フェニルアラニンメチルエステルとの1:1付加化合物粗結晶1.20mg(融点118乃至124°C, L-フェニルアラニンメチルエステル基準で収率78.9%)を得た。これを実施例9に準じて日型強酸性陽イオン交換樹脂による処理を行ない、N-ベンジルオキシカルボニル-L-フェニルアラニンメチルエステルの結晶

でN-ベンジルオキシカルボニル-L-アスパラチル-L-フェニルアラニンメチルエステルとL-フェニルアラニンメチルエステルとの1:1付加化合物7.34mgを得た(融点106乃至118°C, 収率60.5%)

実施例13

N-ベンジルオキシカルボニル-L-アスパラギン酸5.40mg(2ミリモル)及びL-フェニルアラニンメチルエステル塩酸塩8.63mg(4ミリモル)を内容積約3.0mlのフラスコにとり、水2mlを加えて溶解し、アンモニア水(7重量%)でpH6に調節した。この溶液にサモアーゼ1.00mgを加えて、38乃至40°Cで1夜間振とうした。析出した沈殿を水7.0mlで水洗、乾燥してN-ベンジルオキシカルボニル-L-アスパラチル-L-フェニルアラニンメチルエステルとL-フェニルアラニンメチルエステルとの1:1付加化合物5.50mgを得た(融点113乃至116°C, 収率45.3%)。

実施例11

反応時のpHを6.5、振とう時間を1時間にした他は実施例4に準じて反応を行ない、N-ベンジルオキシカルボニル-L-アスパラチル-L-フェニルアラニンメチルエステルとL-フェニルアラニンメチルエステルとの1:1付加化合物9.20mgを得た(収率75.8%)。

実施例12

N-ベンジルオキシカルボニル-L-アスパラギン酸5.34mg(2ミリモル)及びL-フェニルアラニンメチルエステル塩酸塩8.63mg(4ミリモル)を内容積約3.0mlのフラスコに取り、水2mlを加えて溶解し、水酸化ナトリウム水溶液(1N)5.5mlを加えてpHを7に調節した。この溶液にサモライシン5.0mgを加えて38乃至40°Cで2時間振とうした。析出した沈殿を汎集し、乾燥し

実施例14

N-ベンジルオキシカルボニル-L-アスパラギン酸2.70mg(1ミリモル)及びL-フェニルアラニンメチルエステル塩酸塩4.32mg(2ミリモル)を内容積約3.0mlのフラスコ中にとり、水4mlを加えて溶解し、アンモニア水(7重量%)でpH6に調整した。この溶液にサモアーゼ5.0mgを加えて、38乃至40°Cで40時間振とうした。析出した沈殿を汎集し、十分に水を切つてから乾燥して、N-ベンジルオキシカルボニル-L-アスパラチル-L-フェニルアラニンメチルエステルとL-フェニルアラニンメチルエステルとの1:1付加化合物1.77mgを得た(融点103乃至112°C, 収率29.1%)。

実施例15

反応溶液に更にボテトイヒビター5.0mgを加えた他は実施例14と全く同様にして反応を行ない、同一の生成物3.31mg(融点105乃至117°C, 収率62.7%)。

実施例 1-6

N-ベンジルオキシカルボニル-L-アスパラギン酸 5.34 g (2ミリモル) 及び DL-フエニルアラニンメチルエステル塩酸塩 8.63 g (4ミリモル) を内容量約30 mlのフラスコにとり、水7 mlで溶解し、アンモニア水(7重量%)でpH 6.2に調整した。この溶液にサーモライシン 5.0 mgを加えて、38乃至40°Cで1夜間振とうした。析出した沈殿を沪集し、充分に水をつけてから乾燥し、104.5 mgの結晶を得た(融点 104乃至108°C)。N-ベンジルオキシカルボニル-L-アスパラギン酸を基準とする、N-ベンジルオキシカルボニル-L-アスパラチル-フエニルアラニンメチルエステルとフエニルアラニンメチルエステルの1:1付加化合物としての収率 86.1%。これを酢酸エチル-ロヘキサン混合溶媒から再結晶して下記物性及び元素分析値を示す物質を得た：

融点 127~135°C

$(\alpha)_D^{25} = -6.4$ (C=1, メタノール)

元素分析	C ₂₂ H ₂₄ N ₂ O ₇ とし ての計算値(%)	実測値(%)
C :	61.67	61.38
H :	5.65	5.58
N :	6.54	6.29

であり、このものは N-ベンジルオキシカルボニル-L-アスパラチル-フエニルアラニンメチルエステルであつた。

また上記メチレンジクロリドで抽出した抽出残の水層に炭酸水素ナトリウムを加えて pH 7とし、メチレンジクロリド 30 ml で 3 回抽出した。抽出液を無水硫酸マグネシウムで乾燥し塩化水素ガスを約 10 分間吹込んでからメチレンジクロリドを濃縮し、エチルエーテルを加えて再結晶した。D-フエニルアラニンメチルエステル塩酸塩 2.90 gを得た(このものの融点 149乃至151°C; $(\alpha)_D^{25} = +7.8$ (C=1, メタノール); 赤外吸収スペクトル及び核磁気共鳴吸収スペクトルは L-体と一致)。従つて上記の推定は正しく、本実施例の反応で得られたものは N-ベンジルオキシカルボニル-L-アスパラチル-フエニルアラニンメチルエステル

元素分析 特開昭53-92729 (13)
C₂₂H₂₄N₂O₇とし
ての計算値(%) 実測値(%)

C :	63.24	63.52
H :	6.13	6.19
N :	6.97	6.92

またこの物質の赤外吸収スペクトル及び核磁気共鳴吸収スペクトルは第1図及び第2図と全く同じ特徴を示すのでこのものは N-ベンジルオキシカルボニル-L-アスパラチル-フエニルアラニンメチルエステルと D-フエニルアラニンメチルエステルとの 1:1 付加化合物であると推定された。この物質 8.00 g を 40 ml の塩酸 (1N) に溶解し、メチレンジクロリド 30 ml で 3 回抽出し、メチレンジクロリド層を水洗し、無水硫酸マグネシウムで脱水し、更にメチレンジクロリドを蒸発により除去したのち固体分を酢酸エチル-ロヘキサン混合溶媒から再結晶した。得られた結晶は 4.50 g で、その物性及び元素分析の結果は、

融点：124~132°C

$(\alpha)_D^{25} = -15.3$ (C=1, メタノール)

と D-フエニルアラニンメチルエステルとの 1:1 付加化合物であつた。

実施例 1-7

N-ベンジルオキシカルボニル-DL-アスパラギン酸 10.69 g (4ミリモル) 及び L-フエニルアラニンメチルエステル塩酸塩 8.63 g (4ミリモル) を内容量約30 mlのフラスコにとり、水2 mlを加えて溶解し、アンモニア水(7重量%)でpH 6に調整した。この溶液にサーモライシン 5.0 mgを加えて38乃至40°Cで2時間振とうした。析出沈殿を沪集し、水20 mlで洗浄後乾燥して N-ベンジルオキシカルボニル-L-アスパラチル-フエニルアラニンメチルエステルと L-フエニルアラニンメチルエステルとの 1:1 付加化合物 7.87 g を得た(融点 105乃至110°C, N-ベンジルオキシカルボニル-L-アスパラギン酸基準で収率 64.8%)。

この物を酢酸エチル-ロヘキサン混合溶媒から再結晶したものは融点：121乃至125°C。

$(\alpha)_D^{25}$: 7.2 ($C = 1$, メタノール) を示した。

一方反応残液からは D-型に富む N-ベンジルオキシカルボニルアスパラギン酸を回収することができた。

実施例 1.8

L-フエニルアラニンメチルエステルに代えて DL-フエニルアラニンメチルエステルを用いて実

施例 1.7 と同様に処理し反応させ、N-ベンジルオキシカルボニル-L-アスパラチル-L-フエニルアラニンメチルエステルと D-フエニルアラニンメチルエステルとの 1:1 付加化合物 7.56 g を得た (融点 105 乃至 111°C, N-ベンジルオキシカルボニル-L-アスパラギン酸基單で収率 62.3%)。

この物を酢酸エチル-ローハキサン混合溶媒から再結晶したものは融点: 126 乃至 134°C;

$(\alpha)_D^{25}$: -6.5 ($C = 1$, メタノール) を示した。

一方反応残液からは D-型に富む N-ベンジルオキシカルボニルアスパラギン酸を回収することができた。

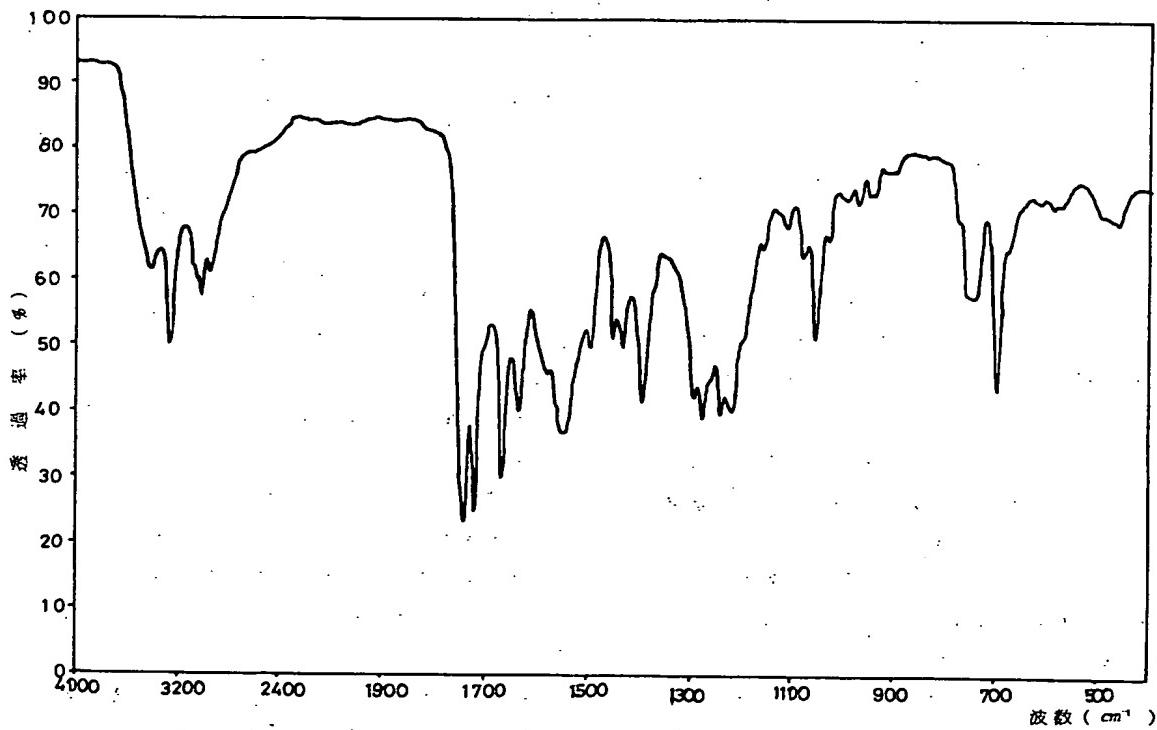
特開 昭53-92729(14)

4. 図面の簡単な説明

第 1 図は実施例 1 で得た本発明の化合物の赤外吸収スペクトルを示す図、第 2 図は同じ化合物の核磁気共鳴吸収スペクトルを示す図、第 3 図はこの化合物からアミノカルボン酸エステル単位を除去した化合物の赤外吸収スペクトルを示す図、第 4 図は同化合物の核磁気共鳴吸収スペクトルを示す図である。

特許出願人 財団法人 相模中央化学研究所
同 (代表出願人) 東洋電機工業株式会社

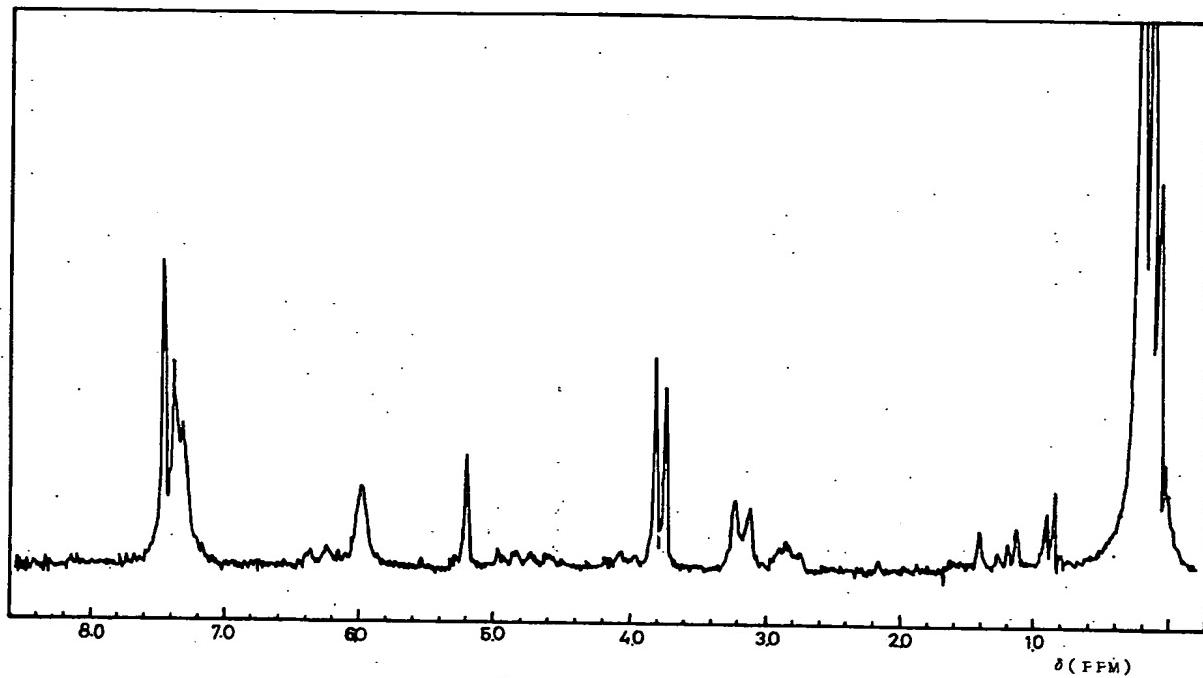
第 1 図



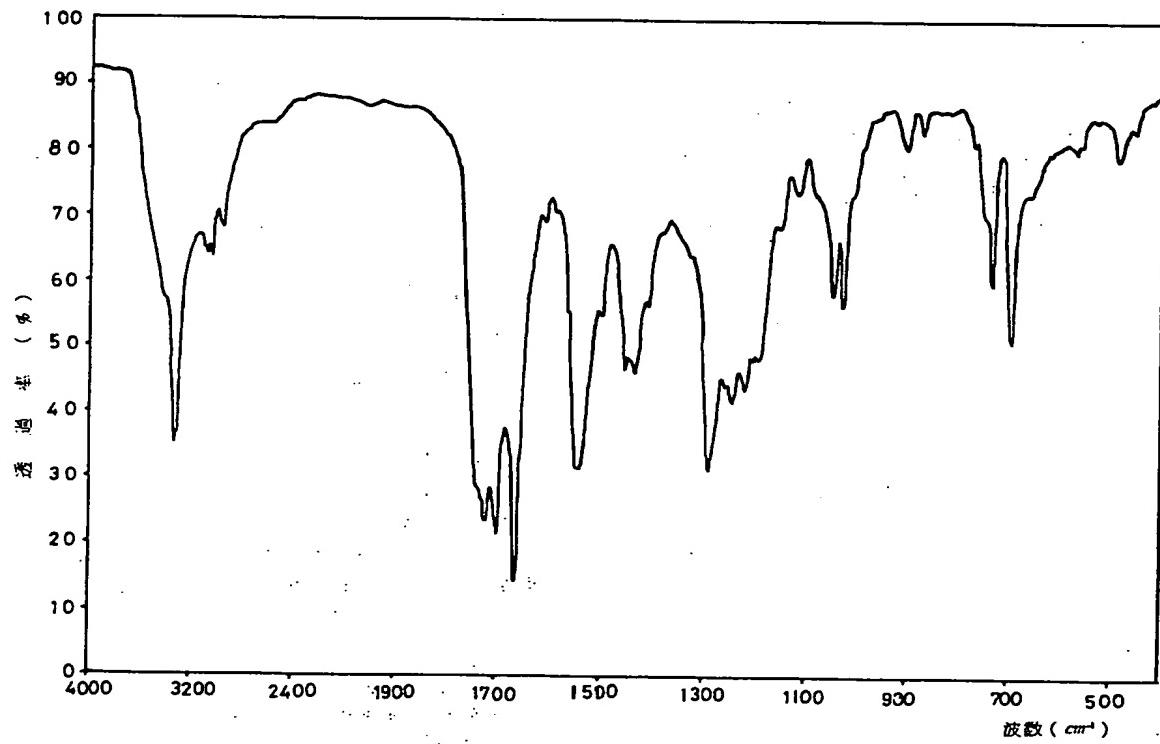
特許出願人 相模中央化学研究所

第 2 図

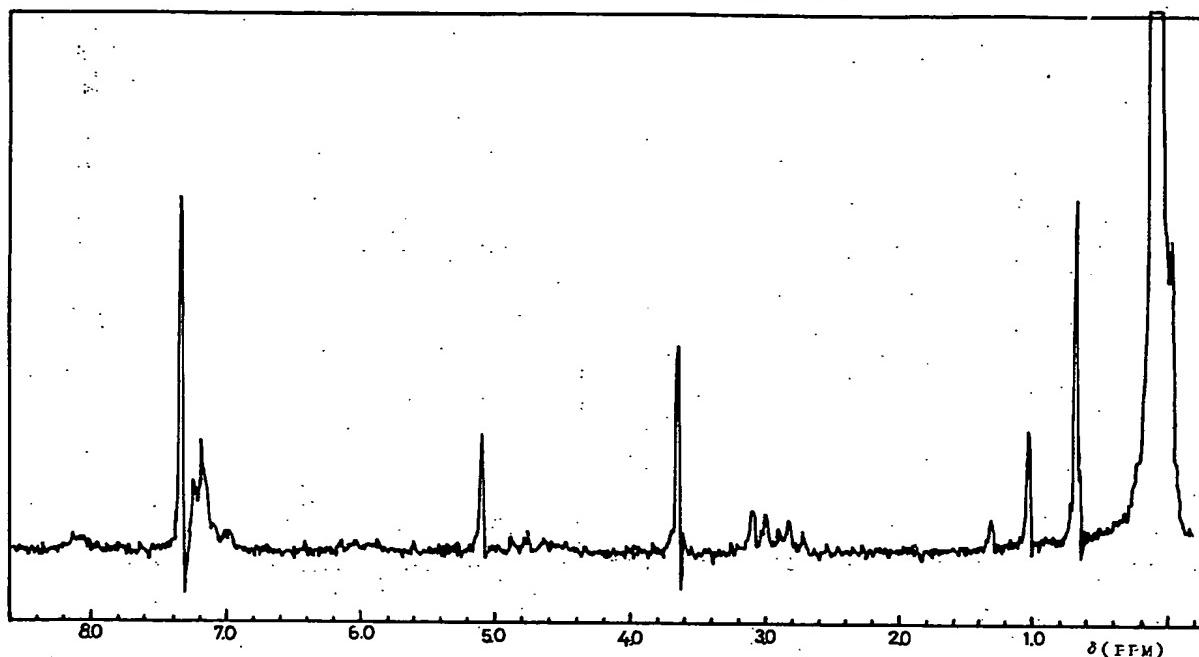
特開 昭53-92729 (15)



第 3 図



第 4 図

溶媒 : CDCl_3 

手 続 補 正 書

第1頁の続き

昭和52年3月24日

②發明者 西村磁哲

特許庁長官 片山石郎殿

新南陽市大字富田4560番地

③出願人 財團法人相模中央化学研究所
東京都千代田区丸の内1丁目4
番5号

1. 事件の表示

昭和52年特許願第 7279号

2. 発明の名称

ジペプチド誘導体とアミノ酸誘導体との付加
化合物及びその製造法

3. 補正をする者

事件との関係 特許出願人(代表特許出願人)

住所 郵便番号 746

山口県新南陽市大字富田4560番地

名称 (330) 東洋曹達工業株式会社

代表者 青木周吉

(連絡先)

郵便番号 107

東京都港区赤坂1丁目7番7号(東京ビル)

東洋曹達工業株式会社 許情総務

電話番号 東京(585)5511

4. 指正命令の日付 自発補正

特開昭53-92729(17)

手続補正書

昭和52年10月18日

5. 補正により増加する発明の数 なし

特許庁長官 熊谷 二段

6. 補正の対象

明細書全文（内容に変更なく、タイプ印書による明細書に補正するもの）

1. 事件の表示

昭和52年特許願第7279号

2. 発明の名称

ジペプチド誘導体とアミノ酸誘導体との付加化合物及びその製造法

3. 補正をする者

事件との関係 代表特許出願人

住所 郵便番号 746

山口県新南陽市大字富田4560番地

名称 (550) 東洋曹達工業株式会社

代表者 青木周吉

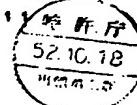
（連絡先）

郵便番号 107

東京都港区赤坂1丁目7番7号(東京ビル)

東洋曹達工業株式会社 特許情報部

電話番号 東京(565)5511



4. 指正命令の日付 自発補正

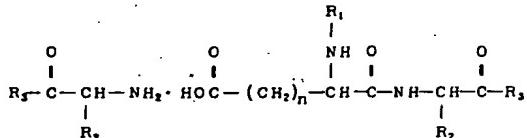
5. 補正により増加する発明の数 なし

6. 補正の対象

明細書の特許請求の範囲の欄

2. 特許請求の範囲

(1) 一般式

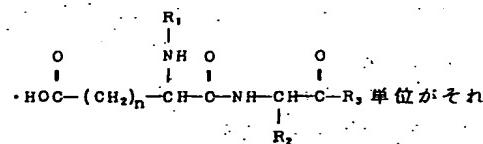
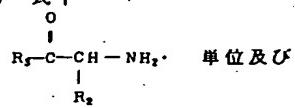


で表わされる化合物(式中 R_1 は脂肪族オキシカルボニル基、核置換基を有することあるベンジルオキシカルボニル基、ベンゾイル基、芳香族スルfonyl基、又は芳香族スルフイニル基であり、 R_2 はメチル基、イソプロピル基、イソブチル基、イソアミル基又はベンジル基であり、 R_3 は低級アルコキシ基、ベンジルオキシ基又はベンズヒドリルオキシ基であり、 n は 1 又は 2 である)

(2) R_1 がベンジルオキシカルボニル基であり、
 R_2 がベンジル基であり、 R_3 がメトキシ基であり、 n が 1 である特許請求の範囲第1項記載

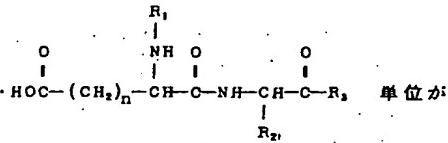
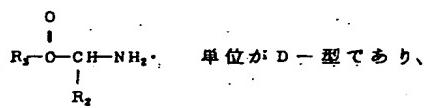
の化合物。

(3) 式中

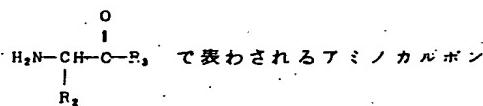


ぞれ L-型及び LL-型である特許請求の範囲第1項又は第2項記載の化合物。

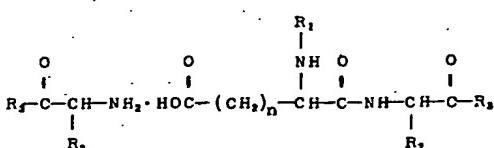
(4) 式中



ル基、芳香族スルフォニル基又は芳香族スルフィニル基であり、nは1又は2である)と、一般式

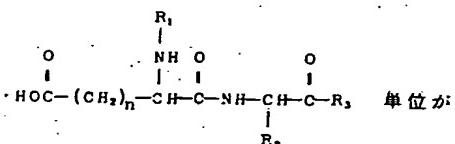
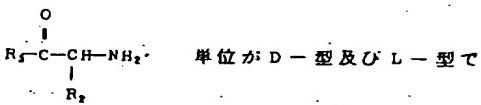


酸エステル(式中 R₂はメチル基、イソブロピル基、イソブチル基、イソアミル基又はベンジル基であり、R₃は低級アルキシ基、ベンジルオキシ基又はベンズヒドリルオキシ基である)とを水性媒体中蛋白分解酵素の存在下で反応させ、更に生成したジペプチドエ斯特ルとアミノカルボン酸エ斯特ルとの付加化合物を形成させ、これを分離することを特徴とする、一般式



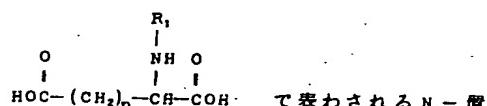
L L-型である特許請求の範囲第1項又は第2項記載の化合物

(5) 式中



L L-型である特許請求の範囲第1項又は第2項記載の化合物。

(6) 一般式



換モノアミノジカルボン酸(式中 R₁は脂肪族オキシカルボニル基、核置換基を有することあるベンジルオキシカルボニル基、ベンゾイ

で表わされるジペプチドエ斯特ルとアミノカルボン酸エ斯特ルとの付加化合物(式中 R₁、R₂、R₃及びnは前記同様の意味である)の製造法。

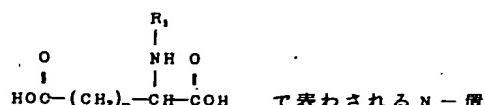
(7) R₁がベンジルオキシカルボニル基であり、R₂がベンジル基であり、R₃がメトキシ基であり、nが1である特許請求の範囲第6項記載の製造法。

(8) 水性媒体が水溶液である特許請求の範囲第6項又は第7項記載の製造法。

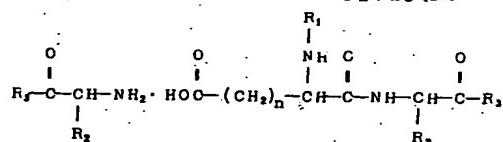
(9) 蛋白分解酵素が金属プロテアーゼである特許請求の範囲第6項乃至第8項のいずれかの項記載の製造法。

(10) 反応をpH5乃至8で行う特許請求の範囲第6項乃至第9項記載の製造法。

(11) 一般式



特開昭53-92729(19)



で表わされる L-L 型ジペプチドエステルと D-L 型又は D-L 型に富むアミノカルボン酸エステルとの付加化合物（式中 R_1 , R_2 , R_3 及び n は前記同様の意味である）の製造法。

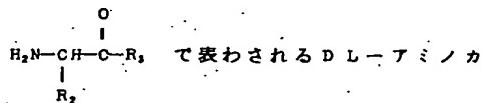
03. R_1 がベンジルオキシカルボニル基であり、 R_2 がベンジル基であり、 R_3 がメトキシ基であり、 n が 1 である特許請求の範囲第 1-1 項記載の製造法。

03. 水性媒体が水溶液である特許請求の範囲第 1-1 項又は第 1-2 項記載の製造法。

04. 蛋白分解酵素が金属プロテアーゼである特許請求の範囲第 1-1 項乃至第 1-3 項のいずれかの項記載の製造法。

04. 反応を pH 5 乃至 8 で行なう特許請求の範囲第 1-1 項乃至第 1-4 項のいずれかの項記載の

換- L -モノアミノジカルボン酸（式中 R_1 は脂肪族オキシカルボニル基、核置換基を有することあるベンジルオキシカルボニル基、ベンゾイル基、芳香族スルフォニル基又は芳香族スルフィニル基であり、 n は 1 又は 2 である）と、一般式

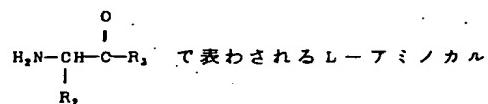


製造法。

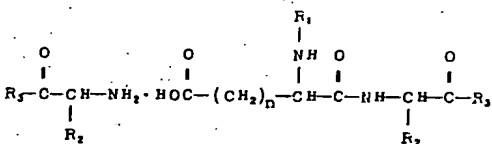
00. 一般式

$\begin{array}{c} R_1 \\ | \\ O \quad O \\ | \quad | \\ HOO - (CH_2)_n - CH - COH \end{array}$

で表わされる N-置換-D-L-モノアミノジカルボン酸（式中 R_1 は脂肪族オキシカルボニル基、核置換基を有することあるベンジルオキシカルボニル基、ベンゾイル基、芳香族スルフォニル基又は芳香族スルフィニル基であり、 n は 1 又は 2 である）と、一般式



存在下で反応させ、生成した L-L 型ジペプチドエ斯特ルと L-L 型アミノカルボン酸エ斯特ルとの付加化合物を形成させて反応系より分離し、水性媒体中より N-置換-D-L-モノアミノジカルボン酸を回収することを特徴とする、一般式



で表わされる L-L 型ジペプチドエ斯特ルと L-L 型アミノカルボン酸エ斯特ルとの付加化合物（式中 R_1 , R_2 , R_3 及び n は前記同様の意味である）の製造法。

04. R_1 がベンジルオキシカルボニル基であり、 R_2 がベンジル基であり、 R_3 がメトキシ基であり n が 1 である特許請求の範囲第 1-6 項記載の製造法。

04. N-置換-D-L-モノアミノジカルボン酸

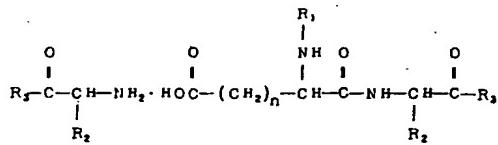
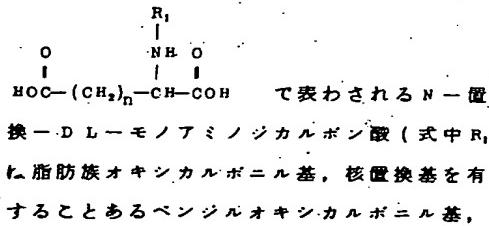
と L-アミノカルボン酸エステルとをモル比でほぼ同量用いる特許請求の範囲第 1, 6 項又は第 1, 7 項記載の製造法。

09 水性媒体が水溶液である特許請求の範囲第 1, 6 項乃至第 1, 8 項のいずれかの項記載の製造法。

10 蛋白分解酵素が金属プロテアーゼである特許請求の範囲第 1, 6 項乃至第 1, 9 項のいずれかの項記載の製造法。

11 反応を pH 5 乃至 8 で行なう特許請求の範囲第 1, 6 項乃至第 2, 0 項のいずれかの項記載の製造法。

四 一般式



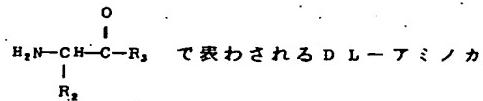
で表わされる L-L-型ジペプチドエステルと D-型又は D-型に富むアミノカルボン酸エ斯特ルとの付加化合物（式中 R₁, R₂, R₃ および n は前記同様の意味である）の製造法。

四 R₁ がベンジルオキシカルボニル基であり、 R₂ がベンジル基であり、 R₃ がメトキシ基であり n が 1 である特許請求の範囲第 2, 2 項記載の製造法。

04 N-置換-D,L-モノアミノジカルボン酸と D,L-アミノカルボン酸エ斯特ルとをモル比でほぼ同量用いる特許請求の範囲第 2, 2 項又は第 2, 3 項記載の方法。

四 水性媒体が水溶液である特許請求の範囲第 2, 2 項乃至第 2, 4 項のいずれかの項記載の製造法。

特開 昭53-92729(20)
ベンゾイル基、芳香族スルフォニル基又は芳香族スルフィニル基であり、 n は 1 又は 2 である）と、一般式



ルボン酸エ斯特ル（式中 R₁ はメチル基、イソプロピル基、イソブチル基、イソアミル基、又はベンジル基であり、 R₂ は低級アルコキシ基、ベンジルオキシ基、又はベンズヒドリルオキシ基である）とを水性媒体中蛋白分解酵素の存在下で反応させ、生成した L-L-型ジペプチドエ斯特ルと D-型又は D-型に富むアミノカルボン酸エ斯特ルとの付加化合物を形成させて反応系より分離し、水性媒体中より N-置換-D,L-モノアミノジカルボン酸を回収することを特徴とする、一般式

四 蛋白分解酵素が金属プロテアーゼである特許請求の範囲第 2, 2 項乃至第 2, 5 項記載の製造法。

四 反応を pH 5 乃至 8 で行なう特許請求の範囲第 2, 2 項乃至第 2, 6 項のいずれかの項記載の製造法。

手 続 極 正 書

昭和52年10月18日

特許庁長官 館 谷 二 殿

1. 事件の表示

昭和52年特許願第7279号

2. 発明の名称

ジペブナド誘導体とアミノ酸誘導体との付加化合物及びその製造法

3. 極正をする者

事件との関係 代表特許出願人

住所 郵便番号 724

山口県新南陽市大字富田4560番地

名称 (550) 東洋電工株式会社

代表者 青木周吉

(連絡先)

郵便番号 107

東京都港区赤坂1丁目7番7号(東京ビル)

東洋電工株式会社 特許情報部

電話番号 東京(585)3311

4. 極正命令の日付 自発極正

5. 極正により増加する発明の数

特開 昭53-92729(21)

6. 極正の対象

明細の発明の詳細な説明の欄

7. 極正の内容

以下の通り。なお明細書の頁数及び行数は出願当初の明細書のそれを記載したが、この明細書は手書きによるものであり、昭和52年3月24日にそのタイプ清書を提出しているので、括弧内にタイプ清書の頁数及び行数を付記した。

(1) 明細書17頁, 1行

(タイプ清書14頁, 10行)の

「……BPM」を「……BPW」と訂正。

(2) 明細書22頁, 4行

(タイプ清書18頁, 5~6行)の

「……第1吸収に」を「……第1吸収に、」
と訂正。

(3) 明細書24ページ, 15行

(タイプ清書20頁, 8~9行)

「面内変角並びに……」を「面内変角)並びに……」
と訂正。

(4) 明細書26頁, 8行

得た。」と訂正。

(タイプ清書21頁, 14行)

「……L一型, D型又はD型」を

「……L一型, D一型又はD一型」と訂正。

以 上

(5) 明細書34頁, 12行

(タイプ清書26頁, 2行)

「……に対する溶解度……」を「……水に対する

溶解度……」と訂正。

(6) 明細書36頁, 13~14行

(タイプ清書29頁, 13~14行)

「……はL体についてのみ起り、D体は……」

を「……はL一体についてのみ起り、D一体

は……」と訂正。

(7) 明細書38頁, 9行

(タイプ清書30頁, 18行)

「はD一型の……」を「はD一型の……」と

訂正。

(8) 明細書57頁, 2行

(タイプ清書46頁, 19行)

「……627%」を「……62.7%」を

手続補正書

昭和53年4月26日

特許庁長官 熊谷 善二 殿

1. 事件の表示

昭和52年特許願第7279号

2. 発明の名称

ジペプチド誘導体とアミノ酸誘導体との付加化合物及びその製造法

3. 補正をする者

事件との関係 代表特許出願人

住所 郵便番号 746

山口県新南陽市大字富田4560番地

名称 (330) 東洋冒進工業株式会社

代表者 脊木周吉

(登録先)

郵便番号 107

東京都港区赤坂1丁目7番7号(東京ビル)

東洋冒進工業株式会社 特許情報部

電話番号 東京(585)3311

4. 補正命令の日付 自発補正

5. ~~特許~~ 増加する発明の数 なし

6. 補正の対象

明細書の発明の詳細な説明の欄

7. 補正の内容

以下の通り、なお明細書の頁数及び行数は出願当初の明細書のそれを記載したが、この明細書は手書きによるものであり、昭和52年3月24日にそのタイプ清書を提出しているので、括弧内にタイプ清書の頁数及び行数を付記した。

(1) 明細書33頁, 13~14行

(タイプ清書27頁, 8行)の

「...緩衝剤...」を「...緩衝剤...」と訂正。

(2) 明細書39頁, 11行

(タイプ清書31頁, 14~15行)

「...D-アミノカルボン酸...」を

「...D-アミノカルボン酸エステル...」と訂正。

(3) 明細書60ページ, 11行

(タイプ清書49頁, 下から5行)

「...+7.8(...」を「...-15.1(...」

と訂正。